報 文

[Nippon Nôgeikagaku Kaishi Vol.60, No. 3, pp.191~197, 1986]

蒸留酒の ^{17}O -NMR 法および ^1H -NMR 法による研究†玉城 武, 松下和弘*, 樋岡克哉*, 高宮義治
(沖縄国税事務所, *日本電子株式会社)

昭和 60 年 2 月 8 日 受 理

 ^1H - and ^{17}O -NMR Studies of Distilled Spirit: New Methods for
Assessing the Aging Process of *Awamori*Takeshi TAMAKI, Kazuhiro MATSUSHITA*, Katsuya HIOKA*
and Yoshiharu TAKAMIYA

Okinawa Taxation Office, Asahimachi 9, Naha 900

*Japan Electron Optics Laboratory, Nakagamimachi 1418, Akishima, Tokyo 196

When *awamori* was matured in a kame or in a non-porous container, the flavor and fragrance improved, and a narrowing of the line width of water on ^{17}O -NMR was observed. This narrowing means an increase in the molecular degree of freedom. Thus in the aging process, the hydrogen bond might be broken-down and the clusters become smaller. These changes appear to depend on the hydroxyl group of water and not on ethanol during the aging process.

In unaged *awamori*, 270 MHz ^1H -NMR gave two signals, assigned to the water and ethanol hydroxyl group, whereas in matured *awamori*, the exchange between the hydroxyl groups was accelerated so that both groups appear as coalescent signals. This suggests that proton was released from the hydrogen bond, the molecular movement become freer. It supports the observations on ^{17}O -NMR measurement that freedom of molecular movement increased and that the exchange rate accelerated when *awamori* matured. In addition, a Laser Raman spectrum of matured *awamori* gave a slightly larger signal in weak areas of the hydrogen bond, further confirming these findings.

(Received February 8, 1985)

緒 言

エタノール水溶液の溶液構造の研究手段として、誘電率、蒸気圧、示差走査熱量測定 (DSC), NMR 等の方法があるが、いずれの方法もそれぞれ異なった角度から、エタノール水溶液について調べている。

DSC 装置を用いた示差走査熱量測定法によれば、固体・液体間の状態変化に伴う吸熱発熱量をとらえることができ、エタノール水溶液中の水とエタノールの相互作用に基づく溶液構造を知ることができる。筆者ら⁽¹⁾はこの方法により、泡盛をカメで熟成させるとカメから溶出する金属成分が水とエタノールの相互作用を促進させる

ことを、明らかにした。

また、エタノール水溶液の会合状態を分子レベルでさぐる研究手段の一つに、NMR による方法がある。エタノール水溶液について、この方法によるいくつかの報告⁽²⁻⁷⁾があり、最近では、赤星ら⁽⁸⁾がブランデーおよびウィスキーについて、堀家ら⁽⁹⁾が食酢について報告している。そして熟成により、蒸留酒の場合にはエタノール、水分子また食酢の場合には、酢酸、水分子の OH 基プロトンの NMR スペクトルの形状がブロードとなり、半値幅の増大が認められることなどから、エタノールと水分子、酢酸と水分子の水素結合が増大していくと説明している。

現在では、蒸留酒の熟成過程における物理化学的变化は、水分子とエタノール分子がそれぞれおよび相互に会

† 泡盛の熟成に関する研究 (第 4 報)。文献 (12) を第 1 報, 第 2 報, 文献 (1) を第 3 報とする。

合してクラスターを形成し、味のまろやかさに大きく貢献しているという考え方が支配的となっている⁽¹⁰⁾。

NMR 法の進歩は近年著しく、 ^{17}O -NMR によるエタノール水溶液の会合状態の測定が、可能になってきた。相島、松下⁽¹¹⁾は、ブランデー中の分子会合状態について調べ、 ^{17}O -NMR により、蒸留酒の熟成を説明する可能性を示唆している。そこでわれわれは、蒸留酒の熟成過程における物理化学的变化について、もう一度検討してみることにした。

本報では ^{17}O -NMR および ^1H -NMR により、泡盛の熟成過程における分子会合状態の変化について調べた。さらに分子会合状態の変化が、官能試験による酒質とどのようなかわりを持っているかについても調べたので、その結果について報告する。

実 験 方 法

1. 泡盛 第1報⁽¹²⁾で使用した泡盛新酒と古酒および同一製造場で製造した各熟成年数(1か月~7年)の泡盛を供試した。

2. NMR 測定 ^{17}O -NMR 装置は、JNM FX 90 Q-NMR Spectrometer (12.147 MHz) および JNM GX 400 FT-NMR Spectrometer (54.19 MHz) を用いた。

一方 ^1H -NMR 装置は、JNM GX 270 FT-NMR Spectrometer (270.16 MHz) および JNM GX 400 FT-NMR Spectrometer (400 MHz) を用いた。また試料温度は 28°C で測定した。

3. Laser Raman スペクトル測定 装置は、JRS 400 D Laser Raman Spectrometer を用い、sensitivity 500×10 pulse/sec, 励起光源アルゴンイオンレーザー、励起波長 $5145 \text{ \AA}$ で測定した。

4. 官能評価 場所：沖縄国税事務所鑑定官室

審査員：鑑定官および製造場技師4名の計6名

審査は、カメ熟成古酒の特徴をそなえたもの、新酒の特徴をそなえたものをそれぞれ並べ、あらかじめ審査員に提示して評点の基準とし、香りと味について、供試泡盛を次の尺度で評価した。また新酒と密閉容器熟成古酒についても、同じ方法で実施した。

- 香
- 5 -- カメ熟成古酒の香りに富む
 - 4 -- ややカメ熟成古酒の香りあり
 - 3 -- 中間の香り
 - 2 -- やや新酒の香りあり
 - 1 -- 新酒の香りあり

- 味
- 5 -- 非常に円やか
 - 4 -- やや円やか
 - 3 -- 中間の円やかさ
 - 2 -- ややあらい
 - 1 -- 非常にあらい
- 香
- 5 -- 密閉容器熟成古酒の香りに富む
 - 4 -- やや密閉容器熟成古酒の香りあり
 - 3 -- 中間の香り
 - 2 -- やや新酒の香りあり
 - 1 -- 新酒の香りあり
- 味
- 5 -- 非常に円やか
 - 4 -- やや円やか
 - 3 -- 中間の円やかさ
 - 2 -- ややあらい
 - 1 -- 非常にあらい

実 験 結 果

1. 12.147 MHz ^{17}O -NMR シグナルの線幅

供試泡盛について、12.147 MHz ^{17}O -NMR 測定を行うとエタノール分子の OH 基のシグナルは水分子の OH 基のシグナルとは、chemical shift が分離できずにそのすそのほうに小さく重なって現れる。

11 製造場で製造した泡盛新酒とカメ熟成古酒、8 製造場で製造した新酒と密閉容器熟成古酒中に存在する水分子の OH 基を、12.147 MHz ^{17}O -NMR で測定した結

Fig. 1. 12.147 MHz ^{17}O -NMR Spectra of the Hydroxyl Oxygens in (a), unaged *awamori*; (b), matured *awamori*.

果を Table I, II に、また新酒と古酒の代表的なスペクトルを Fig.1 に示した。製造場ごとに、新酒と古酒のシグナルの線幅の差をとり、それについて検定を行ったところ、新酒とカメ熟成古酒間および新酒と密閉容器熟成

古酒間にそれぞれ 5% および 1% 水準で、共に有意差が認められた。また、参考までに符号検定⁽¹³⁾を行った結果でも、新酒、カメ熟成古酒間には 5% 水準で有意差が認められ、新酒、密閉容器熟成古酒間でも 5.5% の有意

Table I. Comparison of the Line Width of the Water Oxygen Signal in the 12.147 MHz ^{17}O -NMR Spectra and Sensory Values between Unaged and Matured *Awamori* in *Kame* (porous earthenware pots) (at 28°C)

Brewery	Line width of the oxygen signal(Hz)		Sensory value (Fragrance)		Sensory value (Flavor)	
	Unaged	Matured	Unaged	Matured	Unaged	Matured
A	243	129	1.4	4.7	1.6	4.5
B	229	179	2.7	4.5	2.5	4.7
C	136	129	1.3	3.5	1.7	4.3
D	136	150	1.3	3.4	1.5	4.0
E	136	136	1.5	4.7	2.0	4.6
E	136	143	1.5	4.0	2.0	4.0
F	236	129	1.5	5.0	2.3	5.0
G	159	136	2.0	4.7	1.4	4.9
M	236	136	2.0	4.3	1.7	4.1
N	136	136	2.4	4.1	2.2	4.4
O	136	129	2.0	3.7	1.9	4.3
Q	214	186	1.7	2.9	2.3	2.6
Mean	177.75	143.17	1.78	4.15	1.93	4.28
Std. dev.	48.42	19.48	0.45	0.66	0.35	0.62
t-value		2.55*		11.74**		10.82**
Sign test(%)		3.3*		0**		0**

** Significant at 1% level.

* Significant at 5% level.

Table II. Comparison of the Line Width of the Water Oxygen Signal in the 12.147 MHz ^{17}O -NMR Spectra and Sensory Values between Unaged and Matured *Awamori* in Non-porous Containers (at 28°C)

Brewery	Line width of the oxygen signal(Hz)		Sensory value (Fragrance)		Sensory value (Flavor)	
	Unaged	Matured	Unaged	Matured	Unaged	Matured
A	243	143	1.1	4.6	1.2	4.5
A	243	143	1.1	3.6	1.2	3.7
B	229	129	1.7	4.1	1.5	3.9
D	136	129	1.5	4.6	1.3	4.6
I	143	146	2.4	4.3	1.7	3.9
L	150	139	1.7	5.0	1.9	4.9
L	150	136	1.7	4.8	1.9	4.6
M	236	143	3.5	4.2	3.2	4.4
M	236	186	3.5	4.1	3.2	3.9
P	130	150	1.5	4.3	1.8	4.2
Q	214	179	1.9	3.5	2.1	3.6
Mean	191.82	147.55	1.96	4.28	1.91	4.20
Std. dev.	48.82	18.53	0.84	0.46	0.70	0.43
t-value		3.16**		7.64**		9.00**
Sign test (%)		5.5		0.0**		0.0**

** Significant at 1% level.

* Significant at 5% level.

Table III. Effect of Temperature and Ultrasonic Treatment on Line Width of the Oxygen Signal of Fermentation Water Observed by 12.147 MHz ^{17}O -NMR

Line width of spectrum	28°C	40°C	60°C	80°C	Note
	116	71	39	29	Effect of temperature
Line width of spectrum	Non		Ultrasonic		Note
	93		71		Effect of ultrasonic treatment

Table IV. Changes of H_2O and $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ Line Widths in 54.19 MHz ^{17}O -NMR Spectra during Aging

		Alcohol (%)	HOH (Hz)	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (Hz)
Unaged	One month	43	223	250
Matured in Kame	Two years	44	140	250
	Three years	42	140	250
	Seven years	42	135	245
Unaged	One month	43	223	250
Matured in non-porous container	Three years	44	130	250
	Five years	44	130	250
	Seven years	44	130	250

水準であった。

Chemical shift については、シグナルの線幅が広くて、泡盛新酒、古酒間に意味のある差は認められなかった。

なお泡盛の pH の範囲⁽¹²⁾では、pH の違いはシグナルの線幅に影響しなかった。

一方新酒と古酒の官能評価は、古酒になると味は円やかにになり、香りはいわゆる泡盛の古酒香がでて、品質が明らかに向上した。

すなわち熟成により、水分子 OH 基の線幅が狭くなり、また香りおよび味は向上することが認められた。なお、chemical shift は水のシグナルを 0 として ppm 表示した (Fig.1 参照)。

線幅の減少は、分子運動の自由度の増加を意味すると思われるので、その客観的なデータをとるために、泡盛の仕込用水について、昇温したときおよび超音波処理したときのスペクトルの変化を調べた。

Table III から明らかなように、昇温されあるいは超音波処理されて分子運動の自由度が増加した水は、その OH 基の線幅が減少することがわかる。

2. 54.19 MHz ^{17}O -NMR シグナルの線幅

54.19 MHz ^{17}O -NMR によれば、水分子の OH 基とエタノール分子の OH 基を分離して観察することができる。

相島、松下⁽¹¹⁾は、樽貯蔵のブランデーについて、水分子の OH 基とエタノール分子の OH 基を 54.19 MHz の ^{17}O -NMR によって分離観測し、熟成過程において変

Fig. 2. 54.19 MHz ^{17}O -NMR Spectra of (a), unaged *awamori* (1 month); (b), matured *awamori* (5 years).

化するのは水分子の OH 基の線幅のみで、エタノール分子の OH 基は変化しないことを報告している。そこでわれわれは、同一製造場で製造した熟成年数の異なる

(1か月～7年) カメ貯蔵の泡盛と密閉容器貯蔵の泡盛について、水分子の OH 基とエタノール分子の OH 基を分離観測した。その結果 Table IV および Fig. 2 から明らかなようにカメであれ、密閉容器であれ、熟成によってエタノール分子の OH 基の線幅は不変であり、水分子の OH 基のみが狭くなることが確認され、相島、松下の結果と一致した。

このように古酒になると水の線幅は狭くなるが、酒の品質は水のほかいろいろな成分が複雑にからみあっており、線幅の小さい水を割水用水として使えば即古酒になるということにはならない。

3. 270.16 MHz ^1H -NMR スペクトルおよび Laser Raman スペクトル

上記の熟成年数の異なる (1か月～7年) 泡盛について、270.16 MHz ^1H -NMR で観測したところ、新酒では水分子の OH 基とエタノール分子の OH 基は分離して観測される。ところが古酒になると、OH 基プロトンの交換速度が速くなり、融合して1本になってしまう (Fig. 3 参照)。古酒になると、エタノールの OH 基シグナルが広幅化するのではなく、水とエタノールの OH 基シグナルが融合することは、次の測定結果から理解することができる。すなわち古酒を、正確に 0°C で、400 MHz ^1H -NMR 測定すると、水とエタノールの OH 基シグナルは分離できないが、低温度 (-20°C) では水素の交換速度が遅くなり、2つのシグナルは分離して観測される。また新酒および古酒を、正確に 28°C で 270 MHz ^1H -NMR 測定すると新酒では 5.53 ppm と 4.79 ppm の位置にそれぞれエタノールと水の OH 基シグナルが観測される。古酒になると二つのシグナルの融合が起り、5.01 ppm の位置に融合したシグナルが観測される。

^1H の交換速度が速くなり、水とエタノールの OH 基シグナルが融合することは、 ^{17}O -NMR で、古酒になると分子運動の自由度が増加し、水素の交換速度が速くなるということと合致した。Fig. 3(a) における 5.5 ppm 付近のシグナルがエタノール分子の OH 基であることは、新酒にエタノールを添加することにより、(c) から明らかなごとくそのスペクトルが大きくなることから確認された。

また、Laser Raman スペクトルを測定した結果、新酒と古酒のラマンスペクトルでは、 $3100\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ 付近の OH の伸縮振動にわずかな差が認められ、古酒の吸収

Fig. 3. 270.16 MHz ^1H -NMR Spectra of (a), unaged *awamori* (1 month); (b), matured *awamori* (5 years); (c), sample adding ethanol to an unaged *awamori*.

強度のほうが弱くなっている。このことは、はっきり断定はできないが、古酒では水素結合の状態が新酒と異なる部分があることを示している可能性がある。なお、 ^1H -NMR スペクトルにおける chemical shift は TMS を外部基準として ppm 表示した。

Fig. 4. Laser Raman Spectra of (a), unaged *awamori* (1 month); (b), matured *awamori* (5 years).

考 察

赤星ら⁽⁸⁾は、水、エタノール分子の OH 基を、60 MHz ^1H -NMR で測定したところ、貯蔵年数に比例してウィスキー、ブランデーとも、NMR スペクトルの半値幅が増加することを認めている。このことから、NMR スペクトルの半値幅の増大はプロトン交換速度の減少を意味し、熟成した蒸留酒中では、OH 基プロトンの交換速度が緩慢で、長い貯蔵年月のうちに、エタノール分子と水分子が会合して安定なクラスターを形成、強い分子間力のためプロトンの解離が困難な状態にあるものと考えられる、と報告している。しかしその測定においては、水とエタノール分子の OH 基を分離して観測しておらず、OH 基プロトンの交換している系においては、線幅の広がったことから即会合が強化されたという一義的な解釈は、困難なように思われる⁽¹⁴⁻¹⁶⁾。

われわれの実験結果から、泡盛の熟成過程において、 ^{17}O -NMR では水シグナルの線幅の減少が起こり、一方 ^1H -NMR ではシグナルの融合が起こり、分子運動の自由度が増加することがわかる。このことから、熟成により水素結合が切断され、会合状態が減少していくものと考えられる。水分子はこれまで、6分子を単位とする安定なクラスターを形成しているという考え方が有力とされているが⁽¹⁷⁾、熟成過程における水分子 OH 基の線幅減少は、新酒のときに水分子の大きなクラスターが形成され、熟成により水分子同士の水素結合が徐々に切断さ

れて、安定なクラスターに近づいていくものと考えられる。

前報の DSC 測定⁽¹⁾で、泡盛の熟成によりエタノール、水の共融部分が増加することから、エタノールと水の相互作用が増加するものと考えたが、このことと NMR による観測値との関係は、エタノール水溶液の構造が明らかでない現在、明確ではない。DSC により観測される熟成過程における変化は、カメのみにみられ、密閉容器では観測されない。ところが NMR により観測される熟成過程における変化は、カメと密閉容器のいずれにおいても観測される。DSC による観測と、NMR による観測はそれぞれ異なった角度から、エタノール水溶液について調べているのである。それぞれの物理化学的特性値の相互間の関係は、今後の研究課題である。

今回得られた知見に基づき、エタノール水溶液の構造について理論的解明を行うため、目下実験を継続中である。

要 約

泡盛をカメあるいは密閉容器のいずれで熟成させても、その味および香りは向上し、また水の ^{17}O -NMR シグナルの線幅は減少することが認められた。線幅が減少することは、分子運動の自由度が増加することを意味し、このことから熟成過程は水の水素結合が切断され、クラスターが小さくなっていく過程と考えられる。その熟成過程で変化するのは、水分子の OH 基であって、エ

タノールの OH 基は変化しないことが確認された。

また、観測周波数の高い 270.16 MHz ^1H -NMR で観測した結果、新酒では水の OH 基とエタノールの OH 基は分離して観測されるが、古酒では OH 基同士の交換速度が速くなり、1本になってしまう。この結果より、プロトンが水素結合から解放されて運動が自由になっていることが示唆される。このことは、古酒になると分子運動の自由度が増加し、水素の交換速度が速くなるという ^{17}O -NMR による結果を裏づけるものである。Laser Raman スペクトルを測定した結果でも、新酒と古酒の OH の伸縮振動にわずかな差が認められ、新酒と古酒では水素結合の状態が異なる部分があることが示唆された。

最後に、本研究を行うにあたり、Laser Raman スペクトル測定にご協力くださいました名古屋工業大学工学部岡林博文教授、ならびにご指導、ご助言をくださいました国税庁醸造試験所西谷尚道博士、吉沢淑博士に、衷心より感謝の意を表します。

- (1) 玉城 武, 桑原健治, 長嶺順子, 高江州朝清, 西谷尚道: 醸工, **62**, 99 (1984).
- (2) W. G. Paterson: *Can. J. Chem.*, **41**, 714 (1963).
- (3) W. G. Schneider and L. W. Reeves: *Ann.*

N. Y. Acad. Sci., **70**, 858 (1958).

- (4) A. Coccia, P. L. Indovina, F. Podo and V. Viti: *Chem. Physics*, **7**, 30 (1975).
- (5) O. Y. Samoilov, J. B. Rabinovich and K. T. Dudnikovo: *Zh. Strukt. Khim.*, **6**, 768 (1965).
- (6) J. R. Kuppers and N. E. Carriker: *J. Magn. Reson.*, **5**, 73 (1971).
- (7) G. L. Bertrand, F. J. Millero, Chirg Hsein Wu and L. G. Hepler: *J. Phys. Chem.*, **70**, 699 (1966).
- (8) 赤星亮一, 大熊広一: 昭和 56 年度日本農芸化学会大会講演要旨集, 1981, p. 495.
- (9) 堀家静子, 大熊広一, 玉井広一, 赤星亮一: 農化, **56**, 13 (1982).
- (10) 佐藤 信監修: 「食品の熟成」, 光琳, 1980, p. 139.
- (11) 相島鐵郎, 松下和弘: 昭和 59 年度日本農芸化学会大会講演要旨集, 1984, p. 459.
- (12) 玉城 武, 桑原健治, 長嶺順子, 高江州朝清: 醸協, **78**, 970 (1983); **78**, 973 (1983).
- (13) P. G. ホーエル著, 浅井 晃, 村上正康共訳: 「入門数理統計学」, 培風館, 1978, p. 304.
- (14) 中川直哉: 「NMR スペクトルの解釈」, 共立出版, p. 204.
- (15) H. Terada, K. Shirakawa, F. Kametani and K. Yoshikawa: *Biochim. Biophys. Acta*, **725**, 254 (1983).
- (16) 通 和夫, 竹内敬人, 吉川研一: 「実用 NMR」, 講談社サイエンティフィク, p. 128.
- (17) 鈴木啓三: 「水および水溶液」, 共立全書, p. 140.